

دارای رتبه علمی - پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مقایسه فعالیت ضد انتروکوکسی سه نمونه از عسل های طبیعی استان گلستان در شرایط برون تن

چکیده

زمینه و هدف: شناخت الگوی مقاومت باکتری ها و حساسیت آنها و تلاش جهت یافتن ترکیباتی با طیف اثربخشی گسترده، در کنترل عفونت نقش مؤثری خواهد داشت. این پژوهش با هدف ارزیابی توانایی ضد باکتریایی نمونه های عسل تولیدی در استان گلستان علیه جدایه های انتروکوکوس فکالینس انجام گرفت.

روش بررسی: پس از نمونه برداری، جداسازی و شناسایی جدایه ها، مقاومت آنتی بیوتیکی آنها به روش کربی بائر، تعیین گردید. سپس ۷ جدایه انتروکوکوسی دارای بیشترین میزان مقاومت چندگانه، گزینش و ارزیابی تأثیرات ضد باکتریایی نمونه های عسل، توسط روش های انتشاری انجام و MIC نیز تعیین گردید.

یافته ها: بیشترین قطر هاله بازدارنده در روش دیسک، ۲۰ و در روش چاهک، ۲۶ میلی متر بود. MIC معادل ۶۲/۵ mg/ml برای هر ۳ نمونه عسل حاصل گردید.

نتیجه گیری: هر ۳ نمونه عسل، با وجود مقاومت چشمگیر انتروکوک ها، عملکرد خوبی در بازدارندگی رشد میکروبی در هر ۳ روش مورد آزمون داشته و قادر به جلوگیری از رشد آنها بود. با توجه به اثر ضد انتروکوکسی نمونه های عسل، گسترش مطالعات و به کارگیری آنها در پاسخ به درمان دیگر عوامل باکتریایی ضروری به نظر می رسد.

واژه های کلیدی: مقاومت چند دارویی، جدایه های انتروکوکوس، عسل، استان گلستان

امیر شریعتی

کارشناس ارشد میکروبیولوژی، باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

حمید رضا پردلی

دکترای فارغ شناسی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

محمد اسماعیل تجری

دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

الهه یازرلو

کارشناس ارشد میکروبیولوژی، باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

سحبا کاغذلو

کارشناس میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

نورا ابراهیمی

کارشناس میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

نویسنده مسئول: امیر شریعتی

پست الکترونیک: amirshariati@ymail.com

تلفن: ۰۹۱۱۷۰۰۳۶۹۶

آدرس: گرگان، ابتدای جاده ناهارخوران، روبروی انبار جهاد، نبش عدالت ۵۳، طبقه فوقانی پرده سرای بافنده، شرکت یاخته

دریافت: ۹۱/۸/۲۷

ویرایش پایانی: ۹۱/۱۱/۲۳

پذیرش: ۹۱/۱۱/۲۸

آدرس مقاله:

شریعتی، پردلی ح ر، تجری م ا، یازرلو ا، کاغذلو ص، ابراهیمی ن "مقایسه فعالیت ضد انتروکوکسی سه نمونه از عسل های طبیعی استان گلستان در شرایط برون تن" مجله علوم آزمایشگاهی، پاییز ۱۳۹۲، دوره هفتم (شماره ۳): ۴۵-۳۸

مقدمه

در بررسی های انجام گرفته، مشخص شده است که انتروکوک ها به عنوان دومین عامل شایع عفونت ادراری در بیماران بستری پس از /شریشیا کلی قرار دارند. همچنین این باکتری به عنوان یکی از چهار پاتوژن مهم بیمارستانی محسوب می شود. در کسانی که فاکتور های مستعد کننده ای نظیر ضعف سیستم ایمنی، جراحی های بزرگ، انواع زخم ها، سیستم اسکوپ و مصرف ویریدی دارو دارند، زمینه برای کلونیزاسیون و بیماری زایی انتروکوک ها بسیار فراهم است. انتروکوک ها گروهی از استرپتوکوک ها هستند که به همراه گروه غیر انتروکوک در سیستم طبقه بندی لانسفیلد (Lancefield) به عنوان استرپتوکوک های گروه D شناسایی می شوند. اما به طور کلی از سال ۱۹۸۴ به بعد در یک جنس جداگانه به نام انتروکوکوس قرار گرفتند (۱). انتروکوکوس فکالینس مهمترین گونه در این جنس می باشد و حدود ۸۰-۹۰ درصد بیماری های انتروکوک و نیز حدود ۱۰ درصد از کل عفونت های ادراری توسط این گونه ایجاد می شود. این باکتری ها مقاومتی غیر طبیعی نسبت به آنتی بیوتیک ها داشته و در گروه خود جزو مقاوم ترین باکتری ها محسوب می شوند که همین امر در بیماری زایی و همچنین ایمن ماندن آن در برابر روش های متداول درمان آنتی بیوتیکی، تاثیر گذار می باشد (۲). افزایش روز افزون سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک، علاوه بر این که خود منشأ اکثر عفونت های اکتسابی در بیمارستان است، سبب شده است که تلاش مستمر برای یافتن عوامل جدید ضد میکروبی صورت گیرد. با توجه به هزینه های بالای تحقیقات برای یافتن چنین عواملی، ارزیابی مجدد درمان های سنتی مورد حمایت و پشتیبانی قرار گرفته است. از این رو یافتن مواد زیستی دارای خواص ضد میکروبی و افزایش علاقه مندی به استفاده از دارو های طبیعی می تواند به عنوان یکی از رویکردهای نوین در عرصه تحقیقات پزشکی

در مقابله با مشکلات و کاستی های علم جدید به شمار آید. بررسی های متعدد نشان داده اند که عسل به میزان زیادی خواص ضد باکتریایی، ضد انگلی، ضد قارچی و ضد ویروسی داشته و اثر بازدارندگی آن بر روی گونه های باکتریایی مولد انواع عفونت، گونه های قارچی مسبب انواع کچلی، گونه های انگلی از جمله ژیا ردیا و نیز طیف وسیعی از ویروس ها مثل هرپس و آنفولانزا دیده شده است (۳). مطالعات نشان می دهند که این ماده تأثیر به سزایی در مهار رشد باکتری های گرم مثبت داشته ولی تأثیر آن بر روی باکتری های گرم منفی ناچیز بوده است (۴، ۵). عسل دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، تقوید بافت پیوندی نرم، ممانعت از فعالیت برخی از هیدرولاز ها، اکسیدردوکتاز ها، کیناز ها و همچنین محرک سیستم ایمنی هومورال و سلولی می باشد. علاوه بر آن در نگهداری مواد غذایی به عنوان آنتی اکسیدان نیز به کار می رود (۶-۸). بسیاری از پژوهشگران، اثر ضد میکروبی عسل را به منبع گیاهی مورد استفاده زنبور عسل و خصوصیات شیمیایی آن از جمله اسمولاریته، اسیدیته، pH، پراکسید هیدروژن، ترکیبات آنزیمی نظیر کاتالاز و ترکیبات غیر آنزیمی مانند فنل ها، فلاونوئید ها، اسید آسکوربیک و غیره نسبت داده اند. عسل یک محلول فوق اشباع از قند ها با فعالیت آبی پایین است. بسیاری از گونه های بیماری زای باکتریایی، در محیطی با رطوبت ۹۴-۹۹ درصد رشد می کنند در حالی که رطوبت ۵۶-۶۲ درصد موجود در عسل، مانع رشد بیشتر باکتری ها و قارچ ها شده است. لذا رقیق سازی آن با آب، سبب کاهش فعالیت عسل می گردد (۹، ۱۰). فعالیت ضد میکروبی عسل که موجب ممانعت از بروز عفونت و بهبودی عارضه می شود، اساسی ترین دلیل خاصیت التیام بخشی عسل است (۱۱). استان گلستان به لحاظ داشتن اقلیم های متفاوت از تنوع زیستی وسیع و منحصر به

فردی برخوردار است. این تنوع، گیاهان و گل های در دسترس برای تهیه شهد توسط زنبور عسل و تولید عسل را بیشتر و متنوع تر می سازد. از این رو این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد باکتری سه نوع عسل طبیعی استان گلستان علیه جدایه های *انتروکوک فکالایس* مولد عفونت ادراری و دارای مقاومت چندگانه آنتی بیوتیکی در شرایط برون تن طراحی و آزمایش گردید.

روش بررسی

پس از نمونه برداری از بیماران مراجعه کننده دارای شواهد عفونت ادراری در بیمارستان پنج آذر گرگان و انتقال آنها به بخش میکروب شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، نمونه های جدا شده از مبتلایان احتمالی عفونت ادراری جهت شناسایی و بررسی وجود انتروکوک ها با به کارگیری محیط کشت اختصاصی بروموکرزول پرپل ازید [Merck; Germany] و بررسی تغییر رنگ محیط در اثر مصرف قند و تولید اسید و همچنین آزمایش های استاندارد نظیر بررسی نوع همولیز، حساسیت به پنی سیلین، رشد در ۶/۵ درصد نمک و نیز آزمایش بایل اسکولین، مورد استفاده قرار گرفت (۱).

پس از خالص سازی جدایه های انتروکوکوس، آنتی بیوگرام سویه ها با به کارگیری متد کربی- بائر، در مرحله بعد انجام و حساسیت یا مقاومت آنها نسبت به آنتی بیوتیک ها مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۲). آنتی بیوتیک های مورد استفاده شامل دیسک هایی از ۷ گروه متداول آنتی بیوتیکی ساخت شرکت پادتن طب بودند. بعد از انکوباسیون مناسب، قطر هاله عدم رشد در اطراف هر دیسک اندازه گیری، حساسیت و مقاومت جدایه ها تعیین و نتایج آن با جداول استاندارد CLSI مقایسه گردید.

عسل های مورد بررسی در این طرح نمونه هایی پلی فلورال (چند گله) بوده که در فرآیند تولید آن، شهد از

روی چندین گل توسط زنبوران عسل جمع آوری می گردد. این نمونه ها از سه منطقه دارای فلور گیاهی انبوه و متنوع از گل ها و رستنی های دارویی شامل نواحی کوهستانی اولنگ در شهرستان رامیان، ارتفاعات روستای شاهکوه و همچنین مناطق جنگلی روستای زیارت در شهر گرگان تهیه و با توجه به مناطق تهیه آنها، نمونه عسل رامیان، نمونه عسل شاهکوه و نمونه عسل زیارت نامگذاری شدند. پس از انتقال نمونه های عسل به آزمایشگاه هر یک از آنها از توری های مخصوص استریل عبور و در ظروف استریل در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی گراد و به دور از نور نگهداری شدند. نمونه های عسل به منظور اطمینان از عدم آلودگی اولیه هوازی و بی هوازی، بر روی محیط بلاد آگار کشت داده شدند. پس از آن یک رقت اولیه معادل ۱۰۰۰ mg/ml (۱۰۰۰ میلی گرم عسل در ۱ میلی لیتر آب مقطر استریل معادل ۱^g/ml) برای هر یک از نمونه های عسل تهیه گردید تا با استفاده از همین غلظت، آزمایش های باکتریولوژیک بر روی جدایه های باکتری انجام شود.

برای روش دیسک از هر جدایه انتروکوک مورد آزمون، سوسپانسیون میکروبی دارای کدورت معادل لوله ۰/۵ مک فارلند (1.5×10^8 cfu/ml) با استفاده از محلول نمکی فیزیولوژیک تهیه گردید. سپس از هر سوسپانسیون با استفاده از سواب پنبه ای استریل، کشت باکتری ها به صورت یکنواخت در محیط مولر هیتون آگار انجام گرفت. پس از آن دیسک های کاغذی استریل، در محلولی رقیق شده از هر یک از نمونه های عسل (به نسبت ۱ به ۱۰)، به مدت ۱۵ دقیقه غوطه ور و با فاصله معین از هم و لبه های پلیت بر سطح آگار قرار داده شدند. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرما گذاری شدند و سپس با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک ها نتایج مورد بررسی قرار گرفت (۱۳).

تعیین MIC به روش براث دیلیوشن همانند دو روش دیسک و چاهک، از هر نمونه میکروبی، سوسپانسیون با کدورت ۰/۵ مک فارلند، تهیه شد. سپس از محلول اولیه ۱۰۰۰ mg/ml رقت های سریالی تهیه و برای هر یک از نمونه های عسل در نظر گرفته شد. این رقت ها در ۶ لوله که هر کدام حاوی ۲ ml از محیط کشت نوترینت براث بودند و به صورت ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲، ۱/۶۴ تهیه شدند. همچنین یک لوله از هر نمونه عسل به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که غلظت عسل در آن معادل ۱ یا همان محلول اولیه بود. سپس به هر کدام از لوله ها ۰/۵ CC از سوسپانسیون باکتری افزوده شد. لوله ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه ساتی گراد قرار داده شدند. پس از این مدت لوله ها از نظر وجود کدورت باکتریایی ارزشیابی و تفسیر گردیدند.

یافته ها

از مجموع ۱۷ جدایه انتروکوک جدا شده از نمونه های بالینی ۷ جدایه دارای بالاترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی انتخاب شد و توانایی ضد باکتری نمونه های عسل بر روی آنها مورد سنجش قرار گرفت. در این میان جدایه شماره ۱ به عنوان مقاوم ترین و جدایه

۴ به عنوان حساس ترین جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک ها، گزارش شدند (جدول ۱). از بین آنتی بیوتیک های مورد آزمون، اریتروماکسین بدون بروز هرگونه اثر بازدارندگی در مقابل جدایه های انتروکوک، به عنوان ضعیف ترین آنتی بیوتیک و سیپروفلوکساسین با میزان بازدارندگی کامل علیه تمامی جدایه های مورد بررسی به عنوان مؤثرترین آنتی بیوتیک، تلقی شدند (جدول ۲). در روش انتشار در آگار، جدایه شماره ۱ انتروکوکوس فکالیس کمترین میزان اثرپذیری را نسبت به نمونه های عسل داشته است که این مقادیر در روش چاهک، به طور قابل توجهی بیشتر از روش دیسک، حاصل شد (جدول ۳). همچنین از بین نمونه های عسل مورد آزمون در این مطالعه، نمونه عسل رامیان در هر سه روش دارای بالاترین میزان بازدارندگی علیه جدایه های انتروکوکوس فکالیس مورد بررسی بود. نمونه عسل شاهکوه نیز در متد های انتشاری، در رتبه دوم خاصیت ضد باکتری، جای گرفت. اما در روش براث دیلیوشن، نمونه عسل زیارت بالاتر از آن قرار داشت (جدول ۴).

جدول ۱- مقاومت، حساسیت یا حساسیت نسبی جدایه های باکتری در برابر آنتی بیوتیک ها (درصد)

حساسیت	جدایه						
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
R	۷۳	۴۰	۵۳	۲۰	۳۳	۴۰	۴۰
S	۱۳.۵	۲۷	۲۷	۵۳	۴۰	۲۷	۳۳
I	۱۳.۵	۳۳	۲۰	۲۷	۲۷	۳۳	۲۷

جدول ۲- میزان عملکرد هر آنتی بیوتیک در بروز رفتار های مختلف علیه جدایه های انتروکوکسی (درصد)

Sensitivity	Antibiotic														
	P	ME	OX	AM	CZ	CN	CT	CF	CRO	V	E	GM	T	CP	SXT
R	۷۱.۴	۲۸.۶	۸۵.۷	۱۴.۳	۷۱.۴	۱۴.۳	۱۴.۳	۵۷.۱	۱۴.۳	۴۲.۹	۱۰۰	۵۷.۱	۱۴.۳	۰	۵۷.۱
S	۰	۰	۰	۱۴.۳	۲۸.۶	۸۵.۷	۸۵.۷	۴۲.۹	۸۵.۷	۲۸.۶	۰	۰	۰	۱۰۰	۰
I	۲۸.۶	۷۱.۴	۱۴.۳	۷۱.۴	۰	۰	۰	۰	۰	۲۸.۶	۰	۴۲.۹	۸۵.۷	۰	۴۲.۹

جدول ۳- تأثیر نمونه های عسل بر روی جدایه های انتروکوک در سه روش مورد بررسی

Strain No.							نمونه عسل	روش بررسی
۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱		
۱۷	۱۶	۱۸	۲۰	۱۶	۱۵	۱۴	a ^۱	Disc-diffusion (mm)
۱۷	۱۴	۱۷	۱۸	۱۳	۱۶	۱۳	b ^۲	
۱۴	۱۴	۱۶	۱۷	۱۵	۱۵	۱۴	c ^۲	
۲۱	۲۵	۲۳	۲۶	۱۹	۲۲	۱۴	a	Well diffusion (mm)
۲۲	۲۱	۲۱	۲۶	۱۸	۲۰	۱۸	b	
۲۱	۱۷	۲۰	۲۳	۱۷	۲۰	۱۵	c	
۶۲.۵	۱۲۵	۶۲.۵	۶۲.۵	۲۵۰	۱۲۵	۲۵۰	a	Broth dilution (mg/ml)
۱۲۵	۱۲۵	۶۲.۵	۶۲.۵	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	b	
۱۲۵	۱۲۵	۱۲۵	۶۲.۵	۲۵۰	۱۲۵	۲۵۰	c	

^۱ نمونه عسل رامیان ^۲ نمونه عسل شاهکوه ^۲ نمونه عسل زیارت

جدول ۴- میانگین تأثیر نمونه های عسل بر روی جدایه های انتروکوک

نمونه عسل	روش بررسی		
	Broth dilution (MIC) ^b	Well diffusion ^a	Disc-diffusion ^a
رامیان	۱۳۳.۹	۲۱.۸	۱۶.۶
شاهکوه	۱۶۰.۷	۲۰.۷	۱۵.۴
زیارت	۱۵۱.۸	۱۹	۱۵

بحث

است، اندازه گیری می شود. از آزمایشات انجام گرفته با استفاده از تکنیک انتشار در آگار و تعیین قطر هاله، می توان به بررسی Nzeako و Hamdi در سال ۲۰۰۰ اشاره نمود. این دو پژوهشگر با تعیین قطر هاله عدم رشد در روش انتشاری مورد مطالعه آنها، میزان بازدارندگی رشد میکروبی توسط نمونه های عسل موجود را ارزیابی نمودند. آنها پتانسیل ضد باکتریایی ۶ نمونه عسل را در مقابل ۳ سویه استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شریشیا کلی* و *سودوموناس آئرورینوزا* و به همراه چندین جدایه میکروبی جدا شده از نمونه های بیمارستانی شامل انتروکوک، مورد آزمایش قرار دادند. در بررسی های آنها مشخص شد *انتروکوکوس فکالیس* به همراه چند سویه دیگر دارای

اغلب مطالعات انجام گرفته در زمینه فعالیت ضد میکروبی عسل ها با استفاده از روش های مختلف، به تعیین حداقل غلظت بازدارنده ختم شده است. یعنی در واقع پژوهشگران بیشتر به تعیین MIC برای عسل ها گرایش داشته اند و با توجه به کار های بسیار انجام گرفته و همچنین عسل های متفاوت یا سویه های میکروبی مختلف، مقادیر مختلفی از نتایج گزارش شده توسط آنها مشاهده می شود. اما این مطالعه رویکردی به تعیین مقدار فعالیت ضد میکروبی عسل با در نظر گرفتن قطر هاله عدم رشد طی دو روش دیسک دیفیوژن و چاهک، نیز داشته است که طی آن میزان بازدارندگی رشد میکروبی با توجه به قطری که در ناحیه دایره وار نفوذ عسل در آگار به وجود آمده

نتیجه گیری

گسترش عفونت های بیمارستانی و افزایش مقاومت دارویی میکروارگانسیم ها، مشکلی جدی محسوب می شود. در این میان عفونت مجاری ادراری از مهمترین معضلات بهداشتی عمومی خصوصاً در بین دختران خردسال بوده که عوامل مسبب آن به ویژه سویه های انتروکوکوس، به دلیل بروز مقاومت های دارویی چندگانه طی سال های اخیر، بیش از پیش مورد توجه واقع شده اند. از این رو نتایج این مطالعه می تواند بیانگر اهمیت تأثیرات قابل توجه نمونه های عسل استان گلستان در بازدارندگی رشد این باکتری ها باشد. به هر حال کاربرد های بالینی این ماده طبیعی و سودمند، نیازمند مطالعات بیشتر و وسیع تر است که در صورت موفقیت آمیز بودن و استاندارد نمودن نتایج، در کنار حمایت ها و جهت گیری های صحیح مدیران این بخش، پیشنهاد می شود که از این شهد بهشتی به عنوان جایگزینی مناسب برای داروهای کم اثر و یا بی تأثیر فعلی، و بررسی بر روی دیگر میکروارگانسیم های مولد انواع عفونت مورد استفاده قرار گرفته و شناسایی خصوصیات فیزیوشیمیایی آن در مهار رشد میکروب ها نیز صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی از پروژه پژوهشی شماره ۸۸۰۰۲ مصوب در دانشگاه آزاد اسلامی گرگان و با حمایت باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان واحد، به مرحله اجرا درآمد. لذا از کلیه مسئولین محترم و همکارانی که در پیشبرد مراحل این پروژه کمک نمودند، کمال تشکر و امتنان را داریم.

بالاترین میزان مقاومت نسبت به هر ۶ نمونه عسل بود (۱۳). برخی پژوهشگران نیز به مطالعه درباره چگونگی عملکرد عسل در بروز فعالیت آن علیه میکروارگانسیم ها، پرداخته اند. از مطالعات انجام گرفته در این زمینه می توان به تحقیقات Wahdan در سال ۱۹۹۸ اشاره کرد. وی اثرات ضد میکروبی عسل را در برابر ۲۱ جدایه باکتری و دو قارچ، در مقایسه با محلولی از شکر در آب مورد بررسی قرار داد و نتایج متفاوتی به دست آورد. گزارش های وی حاکی از این مطلب بود که دلیل این فعالیت ها تنها به فشار اسمزی بالا و حضور هیدروژن پراکسید در عسل مربوط نمی باشد. بلکه به عواملی دیگر چون وجود فلاونوئید ها و فنولیک اسید ها در آن هم بستگی دارد. Wahdan همچنین دو نوع فنولیک اسید، شامل کافنیک اسید و فرولیک اسید را برای اولین بار در عسل شناسایی و استخراج نمود (۱۵). در مقابل برخی از پژوهشگران فعالیت ضد میکروبی عسل را تنها به هیدروژن پراکسید موجود در آن که توسط فعالیت آنزیماتیک ترشحات بزاقی زنبور به عسل اضافه می شود، مرتبط دانسته اند (۱۶-۱۸). این در حالی است که عده ای از محققین با وجود مهار هیدروژن پراکسید توسط آنزیم کاتالاز نیز فعالیت ضد میکروبی عسل را گزارش نموده اند (۱۹). گروهی دیگر از پژوهشگران نیز ماهیت فعالیت عسل ها را به خواص فیزیکی آن شامل جاذب رطوبت بودن، چسبندگی و اسمولاریته بالا و نیز اسیدیته بالای آن نسبت داده اند و مکانسیم های میکروب کشی عسل را در این عوامل جستجو کرده اند (۲۰-۲۳).

References

1. Koneman, EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Win Jr WC. *Color Atlas and textbook of Diagnostic Microbiology*. 4th ed. Philadelphia; JB Lippincott Company. 1992; 105-184.
2. Joklik WK, Willet HP et al. *Zinsser Microbiology*, 20th ed. California; Appleton & Lange. 1998; 401-416.
3. Rahnema M, Aghajanlou R. *Antimicrobial affects of honey on intestinal infections with salmonella typhimurium bacteria PTCC, 1547 in male mice*. The quarterly journal of biological sciences. 2009; 2(3): 31-37. [Persian]

4. Fernandes Jr A, Sugizaki MF, Fogo ML, Funari SRC, Lopes A CAM. *In vitro* activity of propolis against bacterial and yeast pathogens isolated from human infections. *J Venom Anim Toxins*. 1995; 1(2): 63-69.
5. Silici S, Kutluca S. *Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region*. *J Ethnopharmacol*. 2005; 99(1): 69-73.
6. Ahn MR, Kumazawa S, Hamasaka T, Bang KS, Nakayama T. *Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea*. *J Agric Food Chem*. 2004; 52(24): 7286-7292.
7. Brätter C, Tregel M, Liebenthal C, Volk HD. *Prophylactic effectiveness of propolis for immunostimulation: a clinical pilot study*. *Forsch komplementarmed*. 1999; 6(5): 256-260.
8. Marquale FD, Di Mambro VM, Georgetti SR, Casagrande R, Valim YM, Fonseca MJ. *Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations*. *J Pharm Biomed Anal*. 2005; 39(3-4): 455-62.
9. French VM, Cooper RA, Molan PC. *The antibacterial activity of honey against coagulase-negative Staphylococci*. *J Antimicrobial Chemotherapy*. 2005; 56(1): 228-31.
10. Molan PC, Betts JA. *Clinical usage of honey as a wound dressing*. *J Wound Care*. 2004; 13(9): 353-356.
11. Molan PC. *Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers- theory and practice*. *Ostomy Wound Management*. 2002; 48(11): 28-40.
12. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method*. *Tech Bull Regist Med Technol*. 1966; 36(3): 49-52.
13. Kabashi El-Toum S, Yagoub SO. *Compression study of anti-microbial activity of honey-bees*. *Research Journal of Microbiology*. 2007; 2(10): 776-781.
14. Hamdi J, Nzeako BC. *Antibacterial potential of honey on some microbial isolated*. *Sultan Qaboos University Journal of Medical Sciences*. 2000; 2: 75-99.[Persian]
15. Wahdan HA. *Causes of the antibacterial activity of honey*. *Infection*. 1998; 26(1): 26-31.
16. Hyslop PA, Hinshaw DB, Scraufstatter IU, Cochrane CG, Kunz S, Vosbeck K. *Hydrogen peroxide as a potent bacteriostatic antibiotic: Implications for host defense*. *Free Radic Biol Med*. 1995; 19(1): 31-37.
17. Morse RA. *The antibiotic properties of honey*. *Pan-Pacific Entomologist*. 1986; 62(4): 337-370.
18. Molan PC. *The role of honey in the management of wounds*. *Journal of Wound Care*. 1999; 8(8): 415-8.
19. Tajik H, Shokohi sabet jalali, Valehi S. *Assessment of Antimicrobial Efficacy of Commercial Urmia's Honeys*. *IJFST*. 2007; 4(2): 39-45.[Persian]
20. Efem SE. *Clinical observation on the wound healing properties of honey*. *Br J Surg*. 1988; 75(7): 679-81.
21. Kaufman T, Eichenlaub EH, Angel MF, Levin M, Futrell JW. *Topical acidification promotes healing of experimental partial thickness skin burns: A randomized double-blind preliminary study*. *Burns Incl Therm Inj*. 1985; 12(2): 84-90.
22. Mathews KA, Binnington AG. *Wound management using honey*. *Compendium Con Edu*. 2002; 24(1): 53-59.
23. Subrahmanyam M. *Topical application of honey in treatment of burns*. *Br J Surg*. 1991; 78(4): 497-498.

Analysis of Anti-Enterococcal Activity of Three Honey Samples in Golestan Province

Shariati, A. (MSc)

MSc of Microbiology, Young Researchers Club, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Iran

Pordeli, HR. (PhD)

PhD of Mycology, Department of Lab-Medical Sciences, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Iran

Tajari, ME. (BSc)

MSc Student of Microbiology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Iran

Yazarloo, E. (MSc)

MSc of Microbiology, Young Researchers Club, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Iran

Kaghazloo, S. (BSc)

BSc of Microbiology, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Iran

Ebrahimi, N. (BSc)

BSc of Microbiology, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Iran

Corresponding Author: Shariati, A.

Email: amirshariati@ymail.com

Received: 17 Dec 2012

Revised: 11 Feb 2013

Accepted: 16 Feb 2013

Abstract

Background and Objective: Understanding the resistance patterns of bacteria and their sensitivity and attempting to find new compounds with broad effective spectrum would be significant in controlling infection. This study aimed at evaluating antibacterial potential of three honey samples produced in Golestan province, Iran, against *Enterococcus faecalis* strains.

Material and Methods: After the isolation and identification of bacterial strains, their antibiotic resistance was determined using Kirby-Bauer method. Then, seven isolates of *Enterococcus faecalis* with multidrug-resistance were selected and antibacterial activities of honey samples assessed by disk-diffusion, well-diffusion and minimum inhibitory concentration test (MIC).

Results: The highest diameter of inhibition zone in disk-diffusion and well diffusion methods is 20 mm and 26 mm, respectively. Also the MIC is measured 62.5 mg.ml for all samples.

Conclusion: In prohibiting microbial growth, all three samples were successful and they could prevent growing bacterial infection in spite of remarkable resistance of *Entrococcus*. Hence, further research should be conducted to assess the effects of honey samples against other bacteria.

Keywords: Multi drug-Resistance; *Enterococcus* spp; Honey; Golestan Province